

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_ 密级\_\_\_\_

学号: 24520121153134

UDC\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

**Mindin在急性肠炎中  
表达上调并通过提高NF- $\kappa$ B家族蛋白  
转录活性促进炎症发生**

**Mindin is up-regulated during colitis and enhances  
inflammation by activating  
the transcription activity of NF- $\kappa$ B protein family**

李萍

指导教师姓名: 巴亚斯古楞 副教授

专 业 名 称: 内 科 学

论文提交日期: 2015 年 4 月

论文答辩日期: 2015 年 5 月

学位授予日期 2015 年 6 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2015 年 05 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年        月        日

## 摘 要

炎症性肠病（IBD）的发生，被认为是遗传、环境和黏膜免疫三方面因素共同作用的结果，而肠黏膜异常的免疫应答又是发病的关键因素之一。在炎症局部，炎性细胞的招募和激活依赖各种细胞膜受体及整合素与细胞基质（ECM）间的相互作用。细胞外基质蛋白 Mindin 是 Mindin/F-spondin 家族成员，在小鼠炎症模型中，有多项研究表明 Mindin 在免疫应答过程中扮演重要角色，但对于其在炎症中的功能和调控机制研究较少。故本课题拟探索肠炎中 Mindin 的表达水平及其在炎症中的信号调控机制。

本课题研究中，我们给予 C57BL/6 小鼠 3% 的 DSS 溶液构建急性肠炎模型，提取模型小鼠肠道组织 mRNA，通过实时定量 PCR 发现 Mindin 及 NF- $\kappa$ B p65 mRNA 表达同对照组相比呈明显上调。为了明确肠炎中 NF- $\kappa$ B p65 的表达上调是否是由 Mindin 诱导所引起，我们构建了 Mindin 过表达的质粒及 pNF- $\kappa$ B-luc 质粒，应用双荧光素酶检测系统进行检测，结果显示 NF- $\kappa$ B p65 启动子的转录活性在 Mindin 过表达及 CpG-ODG 的刺激下明显增加。为了更深一步探索 Mindin 在炎症中的调控机制，我们通过生物信息学预测及免疫共沉淀等方法初步证实 CR3（CD11b/CD18）为 Mindin 的膜结合蛋白，并确定结合部位为 Mindin 的 FS 结构域，进而，我们利用 Mindin 重组蛋白刺激 RAW246.7 和 CMT93 细胞，通过核浆分离免疫印迹证实 Mindin 可促进 NF- $\kappa$ B p50 的核转位。最后我们通过分离小鼠腹腔单核细胞，在 Mindin 蛋白的刺激下行荧光微球吞噬试验，结果显示在 Mindin 蛋白的刺激下小鼠单核巨噬细胞的吞噬功能明显增强。

综上，我们得出结论：Mindin mRNA 在肠炎中表达上调，且可通过 TLR-9 介导的方式上调 NF- $\kappa$ B p65 的转录活性；此外 Mindin 可与 CR3（CD11b/CD18）共结合，结合部位为 Mindin 的 FS 结构域，Mindin 可能通过与 CR3 的相互作用促进 NF- $\kappa$ B p50 的核转位，进而激活炎性细胞，促进炎症。我们的结果提示 Mindin 可能作为治疗克罗恩病的潜在靶点，为临床应用提供了理论基础。

**关键词：** 细胞外基质蛋白 Mindin   Toll 样受体   补体受体 3   核因子 NF- $\kappa$ B

## Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of chronic inflammatory gastrointestinal diseases with complicated etiology and pathogenesis, which is believed to be related to many factors such as intestinal environment, heredity and immunity. Dysfunctions of the immune system has been seen as an important one among the factors. The leukocyte recruitment to inflammatory area and its activation depends on interactions between integrins and extracellular matrix (ECM). Despite the ECM protein Mindin has been previously demonstrated to have important functional roles both in innate and adaptive immune responses, its function and mechanism in colitis remain poorly understood. In this study, we will investigate the regulation of mindin expression and the signaling pathway involved in inflammation.

In the present study, C57BL/6 mice were treated with 3% DSS in drinking water for 5 days and normal drinking water for 4 days to induce acute colitis. During DSS-induced intestinal inflammation in the mice, we observed and recorded the weight, diarrhea and hematochezia of the mice, then the colon was harvested for RNA isolation and histological analysis. The mRNA expression of mindin and NF- $\kappa$ B p65 in DSS group were up-regulated compared with the control group. RAW246.7 cells and CMT93 cells were stimulated with different cytokines and toll-like receptor (TLR) ligands before pNF- $\kappa$ B-luciferase activity was assessed by the Dual-Luciferase reporter assay system, our results shows that stimulation with CpG-ODN (a known TLR-9 ligand) induced  $4.5 \pm 0.3$  fold up-regulation of mindin expression in RAW 264.7 cells. Transfection of the mindin plasmid and stimulation with CpG-ODN significantly increased the NF- $\kappa$ B-luciferase activity by  $5.2 \pm 0.2$  and  $5.6 \pm 0.2$  fold in RAW264.7 and CMT93 cells respectively. In order to further explore the regulating mechanism of mindin in the inflammation, we used bioinformatics prediction and co-immunoprecipitation assay to demonstrate that the mindin binds to complement receptor 3 (CR3) in the cell membrane and determine

that mindin- FS domain is the binding site in vitro. Then we separated the nuclear and cytoplasmic protein of RAW246.7 and CMT93 cells both stimulated with mindin recombinant protein. Western blot shows that mindin could promote the nuclear translocation of NF- $\kappa$ B p50. Mouse peritoneal PMNs isolated from C57BL/6 mice were stimulated with mindin recombinant protein to detect the phagocytosis of FITC labeled Microspheres by mononuclear macrophage, our data shows that stimulation with mindin recombinant protein promoted phagocytosis of mononuclear macrophage.

Therefore, Mindin expression was up-regulated in intestinal inflammation and Mindin may induce NF- $\kappa$ B p65 promoter activation in a TLR-9 mediated manner. Moreover mindin can bind to complement receptor 3 (CR3) in the cell membrane and promote the nuclear translocation of NF- $\kappa$ B p50 in vitro. Our results provide experimental support for clarification of the functions and signaling pathways of the mindin protein, shedding light on mindin as an attractive targets for treatment of IBD.

**Keywords:** Mindin Toll-like receptor (TLR) Complement receptor 3 NF- $\kappa$ B

# 目 录

中文摘要.....	I
英文摘要 .....	II
第一章 前 言 .....	1
1.1 Mindin/F-spondin 基因 .....	1
1.1.1 Mindin 的发现与结构 .....	1
1.1.2 Mindin 蛋白的功能 .....	2
1.1.2.1 Mindin 与免疫系统 .....	2
1.1.2.2 Mindin 与神经系统 .....	2
1.1.2.3 Mindin 与肿瘤 .....	3
1.2 炎症性肠病 .....	3
1.2.1 炎症性肠病免疫发病机制 .....	3
1.2.1.1 免疫调节细胞与炎症性肠病 .....	4
1.2.1.2 细胞因子与炎症性肠病 .....	4
1.3 TOLL 样受体与免疫应答 .....	4
1.4 CR3 (CD11b/CD18) 与免疫应答 .....	5
1.5 (NF)- $\kappa$ B 与免疫应答 .....	7
1.6 研究目的及意义 .....	9
第二章 材料与方 法 .....	10
2.1 实验材料 .....	10
2.1.1 实验动物 .....	10
2.1.2 细胞株 .....	10
2.1.3 质粒载体 .....	10
2.1.4 实验所用引物 .....	10
2.1.5 仪器与耗材 .....	11
2.1.6 试剂 .....	12

<b>2.2 方法</b>	<b>16</b>
2.2.1 小鼠急性肠炎模型的建立和验证	16
2.2.1.1 建立小鼠急性肠炎模型	16
2.2.1.2 石蜡切片 HE 染色	17
2.2.1.3 组织 RNA 提取, 目标基因 RT-PCR 分析	20
2.2.2 探索 Mindin 参与炎症的调控机制 I	22
2.2.2.1 细胞培养与刺激	22
2.2.2.2 细胞 RNA 提取	23
2.2.2.3 Mindin 过表达质粒构建	24
2.2.2.4 双荧光素酶活性检测	33
2.2.3 探索 Mindin 参与炎症的调控机制 II	34
2.2.3.1 表达质粒的构建	34
2.2.3.2 蛋白免疫共沉淀	34
2.2.3.3 免疫荧光染色和观察	35
2.2.3.4 明确蛋白结合部位	36
2.2.3.5 核蛋白胞浆蛋白分离技术	37
2.2.4 单核细胞吞噬试验	38
<b>第三章 结果与分析</b>	<b>39</b>
3.1 Mindin mRNA 在模型小鼠急性肠炎中表达呈上调	39
3.1.1 建立小鼠急性肠炎模型	39
3.1.2 小鼠急性肠炎模型的验证	39
3.1.3 小鼠急性肠炎模型中, 结肠组织中 Mindin mRNA 及 NF- $\kappa$ B p65 mRNA 表达呈上调	41
3.2 Mindin 通过 TLR-9 介导的方式促进 NF- $\kappa$ B 的转录活性	41
3.2.1 Mindin 过表达质粒的构建及验证	43
3.2.2 Mindin 通过 TLR-9 介导的方式促进 NF- $\kappa$ B 的转录活	43
3.3 CR3 (CD11b/CD18) 为 Mindin 的细胞膜共结合分子	43
3.3.1 生物信息学方法预测 Mindin (SPON2) 的候选膜结合分子	43
3.3.2 Mindin 与细胞表面 CR3 (CD11b/CD18) 受体结合	44



3.3.3 确定 Mindin 与细胞表面 CR3 (CD11b/CD18 )受体结合的结合部位 .....	46
3.4 Mindin 可促进 NF- $\kappa$ B p50 核转位 .....	48
3.5 Mindin 促进巨噬细胞的吞噬功能 .....	49
<b>第四章 讨论与展望 .....</b>	<b>50</b>
4.1 炎症性肠病的研究进展 .....	50
4.2 我们的研究 .....	51
4.3 展望 .....	55
<b>参 考 文 献 .....</b>	<b>56</b>
<b>英文缩略词表 .....</b>	<b>61</b>
<b>致谢 .....</b>	<b>63</b>
<b>硕士期间发表的学术论文及所获奖励 .....</b>	<b>64</b>

## Table of Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>II</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Mindin</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 Discovery and structure of Mindin .....	1
1.1.2 Function of Mindin .....	2
<b>1.2 Inflammatory bowel disease (IBD)</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Toll-like receptors and Immune response</b> .....	<b>4</b>
<b>1.4 CR3(CD11b/CD18) and Immune response</b> .....	<b>5</b>
<b>1.5 (NF) -<math>\kappa</math>B and Immune response</b> .....	<b>7</b>
<b>1.6 Aim and Significance of Research</b> .....	<b>9</b>
<b>Chapter 2 Materials and Methods</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 Materials</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2 Methods</b> .....	<b>16</b>
<b>Chapter 3 Experimental results and Conclusion</b> .....	<b>39</b>
<b>3.1 Mindin mRNA expression is upregulated during acute intestinal inflammation</b> .....	<b>39</b>
<b>3.2 Mindin induces (NF) -<math>\kappa</math>B p65 promotor activation in a TLR-9 mediated manner</b> .....	<b>41</b>
<b>3.3 Mindin binds to complement receptor 3 (CR3) , CD11b/CD18 in the cell membrane in vitro</b> .....	<b>43</b>
<b>3.4 Mindin induces (NF) -<math>\kappa</math>B p50 nuclear translocation</b> .....	<b>48</b>
<b>3.5 Mindin can promote phagocytosis of mononuclear macrophage</b> .....	<b>49</b>
<b>Chapter 4 Conclusion and Prospect</b> .....	<b>50</b>

<b>References .....</b>	<b>56</b>
<b>Abbreviation .....</b>	<b>61</b>
<b>Acknowledgement .....</b>	<b>63</b>
<b>Papers published and rewards obtained during the master .....</b>	<b>64</b>

厦门大学博硕士论文摘要库

# 第一章 前言

## 1.1 Mindin/F-spondin 基因

Mindin/F-spondin 家族蛋白是一群具有高度保守的分泌性细胞外基质蛋白，其家族包括斑马鱼的 F-spondin、果蝇属的 M-spondin、斑马鱼的 Mindin1 和 Mindin2<sup>[1, 2]</sup>。1992 年，研究学者在斑马鱼中最先发现 Mindin 和 F-spondin，其主要积聚在基底层，可促进海马胚胎期神经元的生长。斑马鱼中的 F-spondin、Mindin 主要表达于基底层细胞，而 Mindin1 在底索细胞、Mindin2 在生骨节细胞也有表达；果蝇属的 M-spondin 主要表达于肌细胞中<sup>[3]</sup>。Mindin/F-spondin 家族成员在不同部位的表达，发挥着各自的作用。

### 1.1.1 Mindin 的发现与结构

Mindin（也称为 spondin2），最先是由 Higashijima 等人在斑马鱼中发现，并主要积聚在基底层<sup>[3]</sup>。Mindin 包含 2 个 FS 结构，FS1、FS2 和一个含有 WSXW 基序的 TSR 结构域。Mindin 是一种细胞外分泌性蛋白，可以结合到细胞外基质上。后来科学家们又陆续在人和鼠的基因中克隆出 Mindin 和 F-spondin<sup>[4, 5]</sup>。鼠和人的 mindin 在氨基酸水平上有高度的同源性，小鼠与大鼠、人类及斑马鱼的 Mindin 分别有 97%，85%和 60%的同源性。Mindin 在小鼠多个器官都有表达，其中在小鼠肠道、脾脏、肺脏、肠系膜淋巴结、peyer's 淋巴小结以及心肌等组织表达较丰富<sup>[6]</sup>。

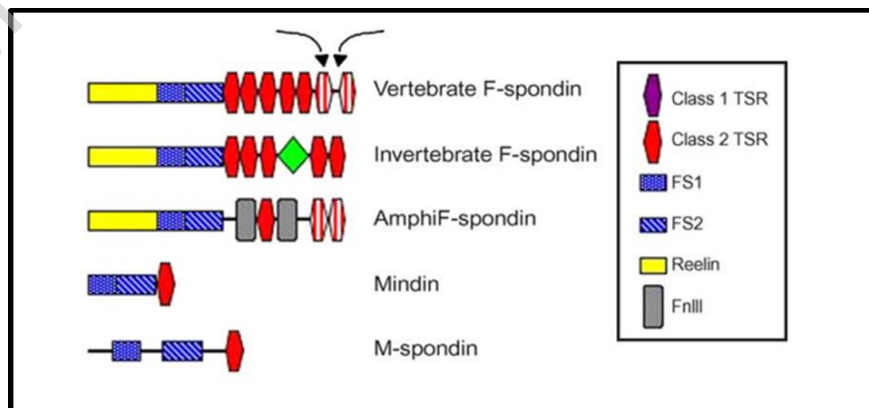


图 1.1.1 Mindin /F-spondin 家族蛋白<sup>[1]</sup>

### 1.1.2 Mindin 蛋白的功能

#### 1.1.2.1 Mindin 与神经系统

对于 Mindin 功能的研究,最早是在神经系统中,Higashijima<sup>[3]</sup>等发现异位表达的 Mindin 蛋白导致其介导的免疫应答集聚在整个胚胎的基底膜,但这种过度表达所介导的免疫应答,不会造成严重的中枢神经系统或胚胎轴的发展异常。此外, Mindin 还能促进胚胎期海马神经元的生长和黏附,且作为细胞外基质蛋白, Mindin 在海马神经元上可同相应的受体结合而发挥作用<sup>[4]</sup>。

#### 1.1.2.2 Mindin 与免疫系统

为了探索细胞外基质蛋白 Mindin 在免疫系统中作用,研究者们构建了 Mindin 基因缺陷的小鼠模型。在相关小鼠模型中,已有大量研究发现, Mindin 在免疫系统中发挥着重大作用。 Mindin 基因缺陷型小鼠能抵抗脂多糖(LPS)引起的感染性休克,并表现出在机体清除细菌微生物感染方面的能力受损。此外, Mindin 缺陷的肥大细胞以及巨噬细胞表现出对广谱细菌微生物刺激的应答缺陷,且这些免疫细胞分泌的细胞炎症因子 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的量同 Mindin 表达正常的细胞相比有明显的下降<sup>[7]</sup>。 Mindin 作为一个模式识别分子,在启动内源性免疫应答抵抗细菌、病毒病原体等的反应中,也起着至关重要的作用, Mindin 可与细菌的脂多糖等模式识别分子结合,作为调理素促进巨噬细胞的吞噬作用<sup>[8]</sup>。 LiZ<sup>[9]</sup>等研究发现在机体受到感染时, Mindin 缺陷型小鼠表现出招募巨噬细胞及中性粒细胞向炎症感染灶移动的能力受损,但中性粒细胞及巨噬细胞的发育无明显影响,基因缺陷型小鼠也表现出对流感病毒清除能力的受损。多项研究证实 Mindin 对炎性细胞有募集作用,推测其机制可能是 Mindin 与病原体直接结合而发挥作用。亦有研究者通过构建小鼠过敏性气管炎模型示 Mindin 缺陷型小鼠其气道炎症轻,仅有较少的嗜酸性粒细胞募集,且 Mindin 可以增强趋化因子介导的嗜酸性粒细胞的迁移黏附作用,促进气道的炎性反应,并发现这些效应是由于 Mindin 与炎性细胞上的黏附分子相互作用而实现的<sup>[10]</sup>。此外,在树突状细胞(DCs)启动的 T 淋巴细胞的过程中, Mindin 与黏附分子之间的相互作用也发挥着重要作用<sup>[7]</sup>。 Mindin 基因缺陷型小鼠,由于低效能的 T 淋巴细胞集聚能力的下降,表现在细胞免疫的启动阶段,树突状细胞启动 CD4<sup>+</sup> T 细胞的能力受损,此外,在这些 DCs 中调控树突状细胞发挥启动功能的 Rho 鸟苷三磷

酸酶 Rac1、Rac2 的表达均下调。这些研究结果说明细胞外基质蛋白 Mindin 在机体的固有免疫或适应性免疫中都发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。

### 1.1.2.3 Mindin 与肿瘤

在体内多种肿瘤中，Mindin 蛋白也有表达，如卵巢癌、肺癌、前列腺癌等。人 DIL-1 基因与 Mindin-F-Spondin 家族中斑马鱼的 Mindin 是同源基因。在人肺组织中，Mindin 在小细胞型肺癌中表达量相对于正常肺组织低<sup>[12]</sup>。但 DIL-1 蛋白在小细胞型肺癌组织中表达减少的具体机制尚不明确，Mindin 可能是作为一种肿瘤抑制因子或者作为细胞外基质成分保护着正常的组织结构。Simon 等<sup>[13]</sup>在临床研究中，通过检测血清中的 Mindin (Spondin-2)，将其作为人卵巢癌诊断的新型肿瘤标志物。这为临床上对卵巢癌的早期诊断和放疗提供了又一方案。另外，Mindin 蛋白作为细胞外基质蛋白，可以介导细胞与基质之间的相互作用。细胞外基质蛋白与细胞黏附分子之间的相互作用对细胞的增殖、分化、黏附、迁移等都有影响<sup>[14]</sup>。已有研究显示，在人的肝癌细胞中干扰 Mindin 蛋白的表达，肝癌细胞的迁移能力和侵袭能力明显增强，与之相关的黏附分子也有相应的变化；而在过表达 Mindin 蛋白的肝癌细胞株中，细胞的迁移能力和侵袭能力则减弱<sup>[15]</sup>。

## 1.2 炎症性肠病

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一组病因尚不明确、累及肠道的慢性非特异性炎症性疾病，主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)<sup>[16]</sup>。此疾病具有慢性和消耗性特征，并可能引起肠梗阻、瘘管形成、脓肿及炎症相关性肿瘤等并发症，其病因及发病机制目前尚未完全阐明。随着对 IBD 发病机制的深入研究，其发病归因于是遗传、黏膜免疫、环境三方面因素共同作用的结果，其中肠道内免疫功能紊乱是 IBD 发病的关键因素之一，包括肠道内免疫细胞、细胞因子和黏附分子等微环境的失衡<sup>[17]</sup>。有关 IBD 的肠道内免疫反应，固有免疫被认为是对肠道炎症的起始至关重要，而获得性免疫应答对慢性炎症的建立和维持起到重要作用<sup>[18]</sup>。

### 1.2.1 炎症性肠病免疫发病机制

### 1.2.1.1 免疫调节细胞与炎症性肠病

在炎症性肠病的发病和持续发展中,免疫因素起着重要作用,包括调节性 T 细胞、辅助性 T 细胞、细胞因子和自身抗体等。研究证实,IBD 的发病与 Th (helper T cell) 淋巴细胞亚群相关。粘膜 T 淋巴细胞的改变提示反复的抗原刺激致使粘膜免疫细胞聚集、激活,产生各种细胞因子引起炎症级联效应,形成粘膜炎症,最终导致肉眼和镜下的 IBD 病理表现。一般来说, T 细胞可分化为几种 T 细胞亚群,包括 Th1、Th2、Treg 等。Th1 及 Th2 可引起胃肠粘膜的慢性炎症。Th1 产生包括 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\alpha$ 、IL-12 等细胞因子在 CD 中表达增加。研究表明, Th1 的放大效应在 CD 的发生中起着重要作用。Th2 产生白介素 4、5、10 和 13 等细胞因子促进 B 细胞产生抗体参与黏膜防御反应<sup>[19]</sup>。Treg 淋巴细胞,是一种免疫调节性 Th 细胞,在机体自身免疫耐受及免疫应答的负向调节中发挥重要作用,大量研究数据及动物实验显示,调节性 T 细胞的应用可治愈动物肠道炎症<sup>[20]</sup>。

### 1.2.1.2 细胞因子与炎症性肠病

细胞因子,即生物信息因子,由丝裂原、免疫原、或其他生物因子刺激免疫细胞产生的可溶性蛋白质,可调节先天性免疫和适应性免疫应答,刺激细胞活化、增殖及分化。IBD 有着复杂的细胞因子调节网络,人们将体内的细胞因子分为促炎细胞因子与抗炎细胞因子。TNF- $\alpha$ 、IFN- $\alpha$ , 白介素 IL-2、IL-6、IL-12 等属于促炎性细胞因子,此类细胞因子主要由巨噬细胞、单核细胞分泌产生,参与细胞免疫;抗炎性细胞因子如: IL-4、IL-10、IL-13 等,主要由 T 淋巴细胞分泌产生,参与体液免疫反应<sup>[21, 22]</sup>。

此外,抗原呈递细胞、黏附分子、人类防御素、人类白细胞抗原、自身抗体因素及感染因素等在炎症性肠病 IBD 的发生发展中都起到了重要作用。综上,炎症性肠病的病因和发病机制复杂,涉及遗传、环境、免疫、感染等多个方面,其中异常的免疫应答在 IBD 的发生发展中起着至关重要的作用<sup>[23]</sup>,但各因素间的相互作用及具体机制仍不明确,有待进一步研究。

## 1.3 Toll 样受体与免疫应答

近几十年来,关于免疫系统研究最主要的进展就是发现了一组能调节先天、后天免疫的高度保守分子-Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)。迄今为止,哺乳动物 Toll 样受体家族已发现 13 个成员,在人体的为 1~10 TLRs<sup>[24]</sup>。TLRs 为一跨膜蛋白,富含亮氨酸重复序列,由胞外区、跨膜区和胞内区构成。TLRs 作为重要的模式识别受体( PRRs),可识别病原微生物表达的碳水化合物、脂类、肽和核酸结构,在识别和启动免疫应答中起重要作用(表 1)<sup>[25]</sup>。

中性粒细胞、树突状细胞、单核细胞、巨噬细胞以及上皮和内皮细胞等多种免疫效应细胞均表达 Toll 样受体,且 TLRs 多表达于细胞表面,而 Toll 样受体 3、7、8、10 的功能区域则在细胞内部<sup>[25]</sup>。多项研究显示,TLRs 的信号转导途径在信号级联放大中,至少分为两种通路,一个是髓样分化因子( myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖的信号转导途径,另一个则是 MyD88 非依赖途径。TLRs 一旦识别并结合病原相关分子模式( PAMPs),就会启动下游信号转导,最终导致核转录因子( NF)- $\kappa$ B 的激活,从而诱导抗病原微生物的细胞因子、趋化因子及协同刺激分子等炎症介质表达。因而成为联系固有免疫和适应性免疫的纽带,在一系列免疫性疾病中发挥重要作用<sup>[26]</sup>。

表 1 人类 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 的特异性配体

TLRs	配 体
TLR1	三酰基脂肽-革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌
TLR2	肽聚糖( PGN) 脂磷壁酸( lipoteichoic acid) -革兰氏阳性细菌; 脂蛋白和脂肽-多种病原体; 酵母多糖
TLR3	病毒双链 RNA( dsRNA) ;人工合成类似物多聚肌胞苷酸-poly( I: C)
TLR4	脂多糖( LPS) -革兰氏阴性细菌; 热休克蛋白 60( HSP60) -宿主衣原体; 热休克蛋白 70( HSP70) -宿主
TLR5	鞭毛蛋白-有鞭毛的革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌
TLR6	二酰基脂肽-发酵支原体
TLR7、8	病毒单链 RNA( ssRNA)
TLRs9	未甲基化的 CpG DNA 模序-细菌
TLRs10	三酰基脂肽

#### 1.4 CR3 (CD11b/CD18) 与免疫应答

III型补体受体 (complement receptor 3, CR3), 也称之为 Mac-1, 属整合



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.